



**EFEK EKSTRAK KULIT MANGGA ARUMANIS TERHADAP PENURUNAN
EDEMA KAKI MENCIT PUTIH JANTAN YANG DIINDUKSI KARAGENIN**

SKRIPSI

Oleh

**Ongky Dyah Anggraini
NIM 122010101025**

**FAKULTAS KEDOKTERAN
UNIVERSITAS JEMBER
2016**



**EFEK EKSTRAK KULIT MANGGA ARUMANIS TERHADAP PENURUNAN
EDEMA KAKI MENCIT PUTIH JANTAN YANG DIINDUKSI KARAGENIN**

SKRIPSI

diajukan guna melengkapi tugas akhir dan memenuhi salah satu syarat untuk menyelesaikan
Program Studi Pendidikan Dokter (S1)
dan mencapai gelar Sarjana Kedokteran

Oleh

Ongky Dyah Anggraini
NIM 122010101025

FAKULTAS KEDOKTERAN
UNIVERSITAS JEMBER
2016

PERSEMBAHAN

Skripsi ini saya persembahkan untuk:

1. Tuhan Yang Maha Esa atas limpahan rahmat-Nya dalam setiap langkah;
2. Ayah Abd. Ghofur dan mama Lilis Siyowati tercinta yang senantiasa memberikan doa, dukungan, bimbingan, kasih sayang tiada henti serta pengorbanan yang telah dilakukan setiap waktu;
3. Kakak sepupu Mohammad Eko Widodo dan adik-adikku tersayang yang selalu memberikan dukungan dan motivasi untuk menyelesaikan skripsi ini;
4. Guru-guru dari taman kanak-kanak sampai dengan perguruan tinggi, yang telah memberikan ilmu dan mendidik saya dengan penuh kesabaran untuk menjadikan saya manusia yang berilmu dan bertakwa;
5. Almamater yang saya banggakan, Fakultas Kedokteran Universitas Jember.

MOTO

“Barang siapa bersungguh-sungguh, maka kesungguhannya itu untuk dirinya sendiri”
(Terjemahan Q. S. Al-‘Ankabut [29]: 6)*

“Sesungguhnya bersama kesulitan ada kemudahan. Maka apabila telah selesai dalam
suatu urusan, tetaplah bekerja keras untuk urusan yang lain”
(Terjemahan Q. S Al-Insyirah [94]: 6-7)**

*) **) Departemen Agama Republik Indonesia. 2005. Al Qur'an dan Terjemahannya.
Bandung: PT Sygma

PERNYATAAN

Saya yang bertanda tangan di bawah ini:

nama: Ongky Dyah Anggraini

NIM: 122010101025

menyatakan dengan sesungguhnya bahwa skripsi yang berjudul “Efek Ekstrak Kulit Mangga Arumanis terhadap Penurunan Edema Kaki Mencit Putih Jantan yang Diinduksi Karagenin” adalah benar-benar hasil karya sendiri, kecuali dalam pengutipan substansi yang sudah disebutkan sumbernya, dan belum pernah diajukan pada institusi manapun, serta bukan karya jiplakan. Saya bertanggung jawab atas keabsahan dan kebenaran isinya sesuai dengan sikap ilmiah yang harus dijunjung tinggi.

Demikian pernyataan ini saya buat dengan sebenarnya, tanpa adanya tekanan dan paksaan dari pihak manapun serta bersedia mendapat sanksi akademik jika ternyata di kemudian hari pernyataan ini tidak benar.

Jember, 19 Januari 2016

Yang menyatakan,

Ongky Dyah Anggraini

NIM 122010101025

SKRIPSI

**EFEK EKSTRAK KULIT MANGGA ARUMANIS TERHADAP
PENURUNAN EDEMA KAKI MENCIT PUTIH JANTAN YANG
DIINDUKSI KARAGENIN**

Oleh

Ongky Dyah Anggraini

NIM 122010101025

Pembimbing:

Dosen Pembimbing Utama : dr. Cicih Komariah, Sp. M

Dosen Pembimbing Anggota : Dr. dr. Aris Prasetyo, M. Kes

PENGESAHAN

Skripsi berjudul “Efek Ekstrak Kulit Mangga Arumanis terhadap Penurunan Edema Kaki Mencit Putih Jantan yang Diinduksi Karagenin” telah diuji dan disahkan pada:

hari, tanggal : Selasa, 19 Januari 2016

tempat : Fakultas Kedokteran Universitas Jember

Tim Penguji,

Penguji I,

dr. Erfan Effendi, Sp. An
NIP 19680328 199903 1 001

Penguji II,

dr. Ida Srisurani Wiji A., M. Kes
NIP 19820901 200812 2 001

Penguji III,

dr. Cicih Komariah, Sp. M
NIP 19740928 200501 2 001

Penguji IV,

Dr. dr. Aris Prasetyo, M. Kes
NIP 19690203 199903 1 001

Mengesahkan,

Dekan Fakultas Kedokteran Universitas Jember

dr. Enny Suswati, M. Kes
NIP 197002141999032001

RINGKASAN

Efek Ekstrak Kulit Mangga Arumanis terhadap Penurunan Edema Kaki Mencit Putih Jantan yang Diinduksi Karagenin; Ongky Dyah Anggraini, 122010101025; 2016: 56 halaman; Jurusan Pendidikan Dokter Fakultas Kedokteran Universitas Jember

Mangga (*Mangifera indica* L.) adalah salah satu buah yang banyak digemari oleh masyarakat Indonesia karena rasanya yang manis dengan daging buah yang tebal dan dibalik rasa manis buahnya, daun, getah, akar, kulit batang dan biji mangga tersimpan kandungan zat aktif yang bermanfaat bagi kesehatan tubuh. Berdasarkan penelitian sebelumnya kulit mangga mengandung senyawa aktif penting seperti mangiferin, flavonoid, asam phenol, karotenoid, *dietary fibre*, dan beberapa enzim aktif lainnya. Kulit mangga juga menunjukkan jumlah flavonoid sebanyak tiga kali lipat lebih tinggi dibandingkan dengan daging buah mangga. Total fenol yang terkandung dalam kulit mangga diperkirakan sebesar 4066 mg/ kg pada sediaan kering. Komponen polifenol dalam kulit buah mangga yang paling utama adalah mangiferin (54,82%) dan kuersetin (41,98%) beserta derivatnya. Kuersetin adalah salah satu senyawa flavonoid yang terdapat di buah-buahan, sayur-sayuran, dan kacang-kacangan. Kuersetin memiliki efek anti inflamasi melalui penghambatan pada transkripsi dan ekspresi COX-2, penghambatan produksi iNOS dan penghambatan enzim histidin dekarboksilase.

Bengkak (edema) adalah salah satu gejala inflamasi yang disebabkan oleh terjadinya peningkatan permeabilitas kapiler, adanya peningkatan aliran darah dan cairan ke jaringan yang mengalami cedera sehingga protein plasma dapat keluar dari pembuluh darah ke ruang interstitium. Reaksi edema karena inflamasi dapat dipicu oleh karagenin dengan cara meningkatkan permeabilitas vaskuler.

Terapi inflamasi dapat menggunakan obat golongan steroid dan golongan *Non Steroid Anti inflammatory Drugs* (NSAID). Berdasarkan data-data sebelumnya penggunaan NSAID memiliki efek samping seperti, iritasi lambung, ulkus gaster,

esofagitis, induksi tukak, dan perdarahan saluran cerna. Para ahli menggunakan alternatif lain terapi inflamasi dengan menggunakan obat herbal. Oleh karena itu, tujuan penelitian ini adalah untuk mengetahui efek pemberian ekstrak kulit mangga arumanis terhadap penurunan edema kaki mencit putih jantan yang diinduksi karagenin.

Penelitian ini menggunakan jenis penelitian *Quasi eksperimental* dengan menggunakan *Control Time Series Design*, dilaksanakan pada bulan Desember 2015 di laboratorium Biomedik Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Jember. Sampel yang digunakan adalah mencit (*Mus musculus*) putih jantan dengan berat 20-30 gram yang berumur 2-3 bulan. Jumlah sampel adalah 28 ekor mencit yang dibagi kedalam 7 kelompok perlakuan, yaitu: kelompok kontrol negatif yang diberikan CMC Na 1%; kelompok kontrol positif yang diberikan natrium diklofenak dengan dosis 0.0065 mg/g; dan 5 kelompok perlakuan yang diberikan ekstrak kulit mangga (*Mangifera indica* L.) arumanis sesuai dengan dosis (0.52 mg/grBB; 1.3 mg/grBB; 2.6 mg/grBB; 5,2 mg/grBB; 26 mg/grBB). Pada masing-masing kelompok diinjeksi dengan karagenin 1% 30 menit setelah disonde kemudian, setelah 30 menit injeksi karagenin dilakukan pengukuran edema kaki menggunakan pletismometer setiap 30 menit selama 6 jam. Variabel bebas pada penelitian ini adalah dosis ekstrak kulit mangga dan variabel terikat adalah edema kaki pada mencit.

Data berupa persentase radang di uji normalitasnya dengan uji *Saphiro Wilk* menunjukkan data terdistribusi normal ($p>0,05$), dilanjutkan dengan uji korelasi *Spearman* dengan nilai sig 0,003 yang menunjukkan korelasi bermakna ($p<0,01$) yaitu pada menit ke-330. Nilai korelasi *Spearman* sebesar 0,632 menunjukkan korelasi positif dengan kekuatan korelasi yang kuat. Dari analisis regresi logaritmik diketahui dosis ekstrak kulit mangga arumanis yang dapat menurunkan edema kaki mencit sebesar 1,002mg/gBB.

Penelitian tersebut membuktikan bahwa ekstrak kulit mangga arumanis dapat menurunkan edema kaki mencit putih jantan yang diinduksi karagenin.

PRAKATA

Puji syukur ke hadirat Allah SWT atas segala rahmat dan karunia-Nya sehingga penulis dapat menyelesaikan skripsi yang berjudul “Efek Ekstrak Kulit Mangga Arumanis terhadap Penurunan Edema Kaki Mencit Putih Jantan yang Diinduksi Karagenin”. Skripsi ini disusun untuk memenuhi salah satu syarat untuk menyelesaikan pendidikan strata satu (S1) pada Fakultas Kedokteran Universitas Jember.

Penyusunan skripsi ini tidak lepas dari bantuan berbagai pihak, oleh karena itu penulis ingin menyampaikan ucapan terima kasih kepada:

1. dr. Enny Suswati, M.Kes., selaku Dekan Fakultas Kedokteran Universitas Jember;
2. dr. Roni Prasetyo, selaku Dosen Pembimbing Akademik yang telah membimbing selama penulis menjadi mahasiswa;
3. dr. Cicih Komariah, Sp. M dan Dr. dr. Aris Prasetyo, M. Kes selaku dosen pembimbing utama dan anggota yang telah meluangkan waktu, serta memberikan ilmu, tenaga dan dukungan untuk membimbing dan memotivasi saya dalam melakukan penelitian dan menyusun skripsi ini sebaik-baiknya;
4. dr. Erfan Effendi, Sp. An dan dr. Ida Srisurani Wiji Astuti, M. Kes sebagai dosen penguji yang berkenan memberikan kritik, saran, dan masukan yang membangun dalam penulisan skripsi ini;
5. seluruh staf pengajar dan karyawan Fakultas Kedokteran Universitas Jember atas bimbingan serta bantuannya selama ini;
6. orang tua tercinta, ayah Abd. Ghofur. dan mama Lilis Siyowati, adik Fredy Dwi Dikba dan Maghfirotul Tri Agustin serta kakak sepupu, Mohammad Eko Widodo yang selalu mendoakan, mendukung dan memberikan semangat hingga aku dapat menyelesaikan pendidikan tinggi ini;

7. sahabat sekaligus rekan kerja terbaikku, Komang Dewi Fridayanti dan Rosita Sopwi Nur Lailly atas segala kerja sama, bantuan, semangat, dorongan dan motivasi yang selalu diberikan dalam menyelesaikan penelitian dan skripsi ini;
8. sahabat-sahabat dekatku Siti Sarah Hajar, Kiki Andari, dan Farmitalia Nisa Trisianti yang selalu memberikan motivasi dan masukan yang positif dalam mengerjakan skripsi ini;
9. analis Laboratorium Biomedik Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Jember, Agus, A.Md., yang telah banyak membantu dalam penelitian ini;
10. keluarga besar TBM Vertex, atas kesempatan menjadi bagian dari persaudaraan yang hebat ini, yang telah menjadi rumah dan keluarga, semoga tetap jaya selalu;
11. keluarga besar PANACEA FK UNEJ 2012 yang telah menuliskan berbagai catatan tak terlupakan dalam kesejawatan ini;
12. semua pihak yang tidak bisa disebutkan satu persatu, terima kasih atas segala bantuan dan kerjasamanya.

Penulis juga menerima segala kritik dan saran yang membangun dari semua pihak demi kesempurnaan skripsi ini. Akhirnya penulis berharap, semoga skripsi ini dapat bermanfaat.

Jember, 19 Januari 2016

Penulis

DAFTAR ISI

	Halaman
HALAMAN JUDUL	i
HALAMAN SAMPUL	ii
HALAMAN PERSEMBAHAN	iii
HALAMAN MOTO	iv
HALAMAN PERNYATAAN	v
HALAMAN PEMBIMBINGAN	vi
HALAMAN PENGESAHAN	vii
RINGKASAN	viii
PRAKATA	x
DAFTAR ISI	xii
DAFTAR TABEL	xv
DAFTAR GAMBAR	xvi
DAFTAR LAMPIRAN	xvii
BAB 1. PENDAHULUAN	1
1.1 Latar Belakang	1
1.2 Rumusan Masalah	3
1.3 Tujuan	3
1.4 Manfaat	3
BAB 2. TINJAUAN PUSTAKA	4
2.1 Inflamasi	4
2.1.1 Definisi Inflamasi	4
2.1.2 Respon Inflamasi akut	4
2.1.3 Tanda Inflamasi	6
2.1.4 Mekanisme Inflamasi.....	7
2.1.5 Mediator Inflamasi.....	9
2.2 Anti inflamasi	10

2.2.1 Anti inflamasi Golongan Steroid (Kortikosteroid).....	10
2.2.2 Anti inflamasi Non Steroid (AINS).....	11
2.3 Mangga (<i>Mangifera indica L.</i>) Arumanis	13
2.4 Kuersetin	16
2.4.1 Mekanisme Kuersetin sebagai Antiinflamasi.....	16
2.5 Karagenin	18
2.6 Subplantar	19
2.7 Pengukuran Edema Kaki.....	21
2.8 Kerangka Konsep	24
2.9 Hipotesis	25
BAB 3. METODE PENELITIAN	26
3.1 Jenis Penelitian.....	26
3.2 Waktu dan Tempat Penelitian.....	26
3.3 Populasi, Besar Sampel dan Cara Sampling.....	26
3.3.1 Populasi dan Sampel.....	26
3.3.2 Cara Sampling	27
3.4 Variabel Penelitian	27
3.4.1 Variabel Bebas.....	27
3.4.2 Variabel Terikat	27
3.5 Definisi Operasional	27
3.5.1 Ekstrak Kulit Mangga Varietas Arumanis.....	28
3.5.2 Natrium Diklofenak	28
3.5.3 Edema Kaki	28
3.5.4 Pletismometer	29
3.5.5 Karagenin.....	29
3.6 Rancangan Penelitian.....	30
3.7 Alat dan Bahan Penelitian	31
3.7.1 Alat	31
3.7.2 Bahan	32

3.8 Prosedur Penelitian	32
3.8.1 Pembuatan Ekstrak Kulit Mangga Varietas Arumanis	32
3.8.2 Penentuan Dosis Bahan Uji	33
3.8.3 Pembagian Kelompok dan Pembagia Hewan Coba	33
3.8.4 Perlakuan pada Hewan Coba Selama Penelitian	34
3.8.5 Penilaian Edema Kaki.....	35
3.9 Analisis Data	36
3.10 Alur Penelitian	37
BAB 4. HASIL DAN PEMBAHASAN	38
4.1 Hasil Penelitian	38
4.2 Analisis Data	41
4.3 Pembahasan	45
4.4 Kelemahan dan Keterbatasan Penelitian	49
BAB 5. PENUTUP	50
5.1 Kesimpulan	50
5.2 Saran	50
DAFTAR PUSTAKA	51
LAMPIRAN A	57
LAMPIRAN B	59
LAMPIRAN C	60
LAMPIRAN D	62
LAMPIRAN E	64
LAMPIRAN F	65

DAFTAR TABEL

	Halaman
Tabel 2.1 Kandungan fenolik pada Kulit Mangga (mg/ kg)	15
Tabel 2.2 Komponen dan fungsi masing-masing bagian di Pletismometer.....	22
Tabel 4.1 Hasil rata –rata pengukuran volume kaki mencit putih jantan.....	38
Tabel 4.2 Hasil rata – rata persentase radang mencit putih jantan setelah diinduksi karagenin	40
Tabel 4.3 Hasil uji normalitas dan homogenitas	42
Tabel 4.4 Hasil uji normalitas dan homogenitas data transform.....	42
Tabel 4.5 Hasil uji Korelasi <i>Spearman</i>	43

DAFTAR GAMBAR

	Halaman
Gambar 2.1 Bagan Mekanisme Terjadinya Inflamasi.....	8
Gambar 2.2 Biosintesis Prostaglandin	12
Gambar 2.3 Tanaman Mangga (<i>Mangifera indica L.</i>)	14
Gambar 2.4 Struktur Kimia Kuersetin	16
Gambar 2.5 Skema Kuersetin sebagai Anti inflamasi	17
Gambar 2.6a Plantar manusia	20
Gambar 2.6b Injeksi Subplantar pada manusia.....	20
Gambar 2.6c Plantar pada tikus	20
Gambar 2.7 Pletismometer.....	22
Gambar 3.1 Pengukuran Volume Edema.....	29
Gambar 3.2 Skema Rancangan Penelitian	30
Gambar 3.3 Alur Penelitian	37
Gambar 4.1 Grafik persentase radang terhadap waktu	41
Gambar 4.2 Kurva persamaan Regresi Logaritmik.....	44

DAFTAR LAMPIRAN

	Halaman
A. LEMBAR PERSETUJUAN ETIK	57
A.1a Halaman Pertama Lembar Persetujuan Etik	57
A.1b Halaman Keduam Lembar Persetujuan Etik	58
B. LEMBAR IDENTIFIKASI BUAH MANGGA	59
C. DOKUMENTASI PENELITIAN	60
D. PEMBUATAN LARUTAN EKSTRAK	62
E. PEMBUATAN LARUTAN NATRIUM DIKLOFENAK	64
F. ANALISIS DATA	65
F.1 Uji Normalitas dan Homogenitas.....	65
F.2 Data Transform	70
F.3 Uji Korelasi <i>Spearman</i>	73
F.4 Uji Regresi Logaritmik	76

BAB 1. PENDAHULUAN

1.1 Latar Belakang

Mangga (*Mangifera indica* L.) adalah salah satu buah yang banyak digemari oleh masyarakat Indonesia karena rasanya manis dengan daging buah yang tebal dan dibalik rasa manis buahnya, daun, getah, akar, batang dan biji mangga tersimpan kandungan zat aktif yang bermanfaat bagi kesehatan (Shah *et al.*, 2010; Eka, 2011). Kandungan zat aktif pada daun mangga seperti mangiferin, saponin, tanin, flavonoid dan steroid (Masibo dan He, 2008) pada daging buah mangga seperti senyawa beta karoten, flavonoid, fenol dan vitamin C (Kim *et al.*, 2010) serta pada kulit batang mangga seperti alkaloid, flavonoid dan tanin (Rosyidah, 2010; Simbala, 2009). Menurut Garido *et al.* (2001), ekstrak *aqueous* kulit batang mangga memiliki efek sebagai analgesik pada tikus yang diinduksi formalin dan sebagai anti inflamasi pada tikus yang diinduksi karagenin. Di Indonesia kulit batang mangga juga memiliki manfaat yaitu sebagai anti oksidan (Rosyidah, 2010). Sedangkan ekstrak etanol daun mangga (*Mangifera indica* L.) memiliki efek sebagai anti diabetes pada tikus wistar dengan metode induksi aloksan (Mathalaimutoo *et al.*, 2012) serta efek lain dari daun mangga yaitu sebagai analgesik, anti inflamasi dan anti mikroba (Petchi, 2011). Kulit mangga diteliti oleh Ajila *et al.* (2007) mengandung senyawa aktif seperti flavonoid, asam phenol, karotenoid, dan *dietary fibre*. Menurut Kim *et al.* (2010), kulit buah mangga menunjukkan jumlah flavonoid sebanyak tiga kali lipat lebih tinggi dibandingkan dengan daging buah mangga. Namun, penelitian mengenai manfaat kulit mangga belum pernah dilakukan di Indonesia.

Total fenol yang terkandung dalam kulit mangga diperkirakan sebesar 4066 mg/ kg pada sediaan kering. Secara umum, kulit mangga yang mentah memiliki total polifenol yang lebih tinggi dibandingkan yang masih matang. Komponen polifenol dalam kulit buah mangga yang paling utama adalah mangiferin (54,82%) dan kuersetin (41,98%) beserta derivatnya (Masibo dan He, 2008).

Kuersetin adalah salah satu senyawa flavonoid yang terdapat pada buah-buahan, sayur-sayuran dan kacang-kacangan. Kuersetin sering digunakan dalam berbagai aktivitas biologi seperti anti kanker dan anti inflamasi (Xiao *et al.*, 2011; Park *et al.*, 2006). Kuersetin bertindak sebagai agen anti inflamasi melalui penghambatan transkripsi COX-2 (D'mello *et al.*, 2011).

Radang atau inflamasi merupakan respon protektif setempat yang ditimbulkan oleh cedera atau kerusakan jaringan, yang berfungsi menghancurkan, mengurangi, atau mengurung (sekuester) baik agen pencedera maupun jaringan yang cedera itu. (Dorland, 2002). Reaksi inflamasi ditandai dengan *kalor* (panas), *dolor* (nyeri), *rubor* (merah), penurunan fungsi, dan *tumor* (bengkak). Bengkak (edema) terjadi disebabkan oleh terjadinya peningkatan permeabilitas kapiler, adanya peningkatan aliran darah dan cairan ke jaringan yang mengalami cedera sehingga protein plasma dapat keluar dari pembuluh darah ke ruang interstitium (Corwin, 2008). Reaksi edema karena inflamasi dapat dipicu oleh pemberian karagenin, edema yang disebabkan oleh injeksi karagenin diperkuat oleh mediator inflamasi terutama prostaglandin E1 dan prostaglandin E2 dengan cara meningkatkan permeabilitas vaskuler (Siswanto dan Nurulita, 2005).

Terapi inflamasi dapat menggunakan obat golongan steroid dan golongan *Non Steroid Anti inflammatory Drugs* (NSAID). Selama ini golongan NSAID telah digunakan sebagai terapi anti inflamasi, analgesik, dan anti piretik tetapi, berdasarkan data-data yang dilaporkan sebelumnya bahwa penggunaan NSAID memiliki efek samping seperti iritasi lambung, ulkus gaster, esofagitis, induksi tukak kadang disertai anemia sekunder akibat perdarahan saluran cerna (Tjay, 2002; Wilmana, 2007). Oleh karena itu, para ahli menggunakan alternatif lain terapi anti inflamasi yaitu dengan menggunakan obat herbal.

Penelitian tentang kulit mangga sebagai anti inflamasi belum pernah dilakukan di FK UNEJ, jika dilihat dari kandungan kuersetin kulit mangga yang berpotensi memiliki efek anti inflamasi sehingga peneliti ingin melakukan penelitian

yang berjudul “Efek Ekstrak Kulit Mangga Arumanis terhadap Penurunan Edema Kaki Mencit Putih Jantan yang Diinduksi Karagenin”.

1.2 Rumusan Masalah

Dari latar belakang di atas, rumusan masalahnya adalah “apakah ekstrak kulit mangga arumanis dapat menurunkan edema kaki mencit putih jantan yang diinduksi karagenin?”

1.3 Tujuan

Berdasarkan rumusan masalah diatas, tujuannya adalah untuk mengetahui efek pemberian ekstrak kulit mangga arumanis terhadap penurunan edema kaki mencit putih jantan yang diinduksi karagenin.

1.4 Manfaat

Manfaat dari penelitian ini adalah sebagai berikut.

- a. Sebagai data dasar dan bahan pertimbangan bagi ilmu kedokteran dalam pengembangan obat selanjutnya terutama kulit mangga arumanis.
- b. Dapat dijadikan acuan dalam penelitian lebih lanjut mengenai dosis ekstrak kulit mangga sebagai obat herbal salah satunya sebagai anti inflamasi.
- c. Sebagai dasar informasi pengembangan ekstrak herbal terstandar di Indonesia.

BAB 2. TINJAUAN PUSTAKA

2.1 Inflamasi

2.1.1 Definisi Inflamasi

Radang atau inflamasi merupakan respon protektif setempat yang ditimbulkan oleh cedera atau kerusakan jaringan yang berfungsi menghancurkan, mengurangi, atau mengurung (sekuester) baik agen pencedera maupun jaringan yang cedera. (Dorland, 2002). Inflamasi disebabkan oleh karena trauma, bahan kimia, panas, atau fenomena lainnya. Jaringan yang mengalami inflamasi tersebut melepaskan berbagai zat yang menimbulkan perubahan sekunder disekeliling jaringan yang normal (Guyton, 2011). Gejala respon inflamasi meliputi *rubor* (kemerahan), *kalor* (panas), *dolor* (nyeri), *tumor* (pembengkakan), dan *functio laesa* (penurunan fungsi). Respon inflamasi dapat bersifat akut atau kronis. Inflamasi akut terjadi segera setelah cedera, sedangkan inflamasi kronis merupakan inflamasi yang berlangsung lebih dari dua minggu dan dapat timbul setelah inflamasi akut, misalnya karena infeksi yang tidak sembuh (Corwin, 2008).

2.1.2 Respon Inflamasi Akut

Terdapat dua stadium pada reaksi inflamasi akut yaitu vaskular dan selular. Stadium vaskular pada respon inflamasi dimulai segera setelah jaringan mengalami cedera. Arteriol di daerah tersebut berdilatasi, sehingga terjadi peningkatan aliran darah ke tempat cedera. Hal ini menyebabkan timbulnya gejala *rubor* (kemerahan) dan *kalor* (panas). Vasodilatasi ini terutama akibat pelepasan bahan kimia dari degranulasi sel mast dan pelepasan mediator-mediator kimia lain selama inflamasi. Peningkatan aliran darah lokal tersebut menyebabkan lebih banyak leukosit fagositik dan protein plasma yang tiba ditempat cedera. Pada waktu yang bersamaan, histamin dan mediator kimia yang dibebaskan selama inflamasi menyebabkan membesarnya pori-pori kapiler (ruang antar sel endotel), sehingga permeabilitas kapiler meningkat.

Protein plasma yang dalam keadaan normal tidak dapat keluar dari pembuluh darah dan dapat lolos ke ruang interstisium. Peningkatan tekanan osmotik koloid di ruang interstisium yang disebabkan oleh kebocoran protein plasma dan peningkatan tekanan darah kapiler akibat peningkatan aliran darah lokal dapat menimbulkan edema lokal yang disebut *tumor* (pembengkakan) (Corwin, 2008).

Stadium selular dimulai setelah peningkatan aliran darah ke bagian yang mengalami cedera. Leukosit dan trombosit tertarik ke daerah tersebut karena bahan kimia yang dilepaskan oleh sel yang cedera, sel mast, dan produksi sitokin. Penarikan leukosit yang meliputi neutrofil dan monosit ke daerah cedera disebut kemotaksis. Satu jam setelah cedera, daerah yang cedera sudah dipadati oleh leukosit yang keluar dari pembuluh darah. Neutrofil adalah sel yang pertama kali tiba kemudian diikuti oleh monosit yang dapat membesar dan berubah menjadi makrofag dalam periode delapan sampai dua belas jam berikutnya. Emigrasi leukosit dari darah ke jaringan melibatkan proses marginasi, diapedesis dan gerakan amuboid. Marginasi adalah melekatnya leukosit darah, terutama neutrofil dan monosit ke bagian dalam lapisan endotel kapiler pada jaringan yang cedera. Leukosit segera keluar dari darah ke dalam jaringan dengan berperilaku seperti amuba dan menyelinap melalui pori-pori kapiler yang disebut diapedesis. Gerakan leukosit ini juga dibantu oleh adanya kemokin, yaitu suatu mediator kimiawi yang bersifat kemotaksis yang dapat menarik leukosit ke daerah inflamasi. Neutrofil dan makrofag membersihkan daerah yang meradang dari zat-zat toksik dan debris jaringan dengan cara fagositosis. Setelah sel-sel fagositik memasukkan benda sasaran, terjadi fusi lisosom dengan membran yang membungkus benda tersebut dan lisosom mengeluarkan enzim hidrolitiknya ke dalam membran tersebut, sehingga benda yang terperangkap dapat diuraikan. Trombosit yang masuk ke daerah cedera merangsang pembekuan untuk mengisolasi infeksi dan mengontrol perdarahan. Sel-sel yang tertarik ke daerah cedera akhirnya akan berperan melakukan penyembuhan (Corwin, 2008).

2.1.3 Tanda Inflamasi

Gambaran makroskopis peradangan digambarkan pada 2000 tahun lalu dan masih dikenal sebagai *tanda-tanda pokok peradangan*; yang mencakup kemerahan, panas, nyeri, dan pembengkakan, atau dalam bahasa Latin klasik, *rubor, calor, dolor, dan tumor*. Pada abad terakhir ditambahkan tanda pokok yang kelima, yaitu perubahan fungsi atau *functio laesa*. Gambaran makroskopik inflamasi sebagai berikut.

1. *Rubor* (kemerahan)

Rubor atau kemerahan biasanya merupakan hal pertama yang terlihat di daerah yang mengalami peradangan. Seiring dengan dimulainya reaksi peradangan, arteriol yang memasok daerah tersebut berdilatasi sehingga memungkinkan lebih banyak darah yang mengalir ke dalam mikrosirkulasi lokal. Kapiler-kapiler yang sebelumnya kosong atau mungkin hanya sebagian meregang, secara cepat terisi penuh dengan darah. Keadaan ini disebut hiperemi atau *kongesti*, menyebabkan kemerahan lokal pada peradangan akut. Tubuh mengontrol produksi hiperemia pada awal reaksi peradangan, baik secara neurologis maupun kimiawi melalui pelepasan zat-zat seperti histamin.

2. *Kalor* (panas)

Kalor atau panas terjadi bersamaan dengan kemerahan pada reaksi peradangan akut. Sebenarnya, panas secara khas hanya merupakan reaksi peradangan yang terjadi pada permukaan tubuh, yang secara normal lebih dingin dari 37⁰C yang merupakan suhu inti tubuh. Daerah peradangan di kulit menjadi lebih hangat dari sekelilingnya karena lebih banyak darah (pada suhu 37⁰C) dialirkan dari dalam tubuh ke permukaan daerah yang terkena dibandingkan dengan daerah yang normal. Fenomena hangat lokal ini tidak terlihat di daerah-daerah meradang yang terletak jauh di

dalam tubuh, karena jaringan-jaringan tersebut sudah memiliki suhu inti 37°C dan hiperemia lokal tidak menimbulkan perbedaan.

3. *Dolor* (nyeri)

Dolor atau nyeri pada suatu reaksi peradangan tampaknya ditimbulkan dengan berbagai cara. Perubahan lokal atau konsentrasi lokal ion-ion tertentu dapat merangsang ujung-ujung saraf. Hal yang sama, pelepasan zat-zat kimia bioaktif lain dapat merangsang saraf. Selain itu, pembekakan jaringan yang meradang menyebabkan peningkatan tekanan lokal yang tidak diragukan lagi dapat menimbulkan nyeri.

4. *Tumor* (pembengkakan)

Aspek paling mencolok pada peradangan akut mungkin adalah *tumor* atau pembekakan lokal yang dihasilkan oleh cairan dan sel-sel yang berpindah dari aliran darah ke jaringan interstisial. Campuran cairan dan sel-sel ini yang tertimbun di daerah peradangan disebut *eksudat*. Pada awal perjalanan reaksi peradangan sebagian besar eksudat adalah cairan, seperti yang terlihat secara cepat di dalam lepuhan setelah luka besar ringan pada kulit. Kemudian, sel-sel darah putih atau leukosit meninggalkan aliran darah dan tertimbun sebagai bagian eksudat.

5. *Functio Laesa* (Perubahan Fungsi)

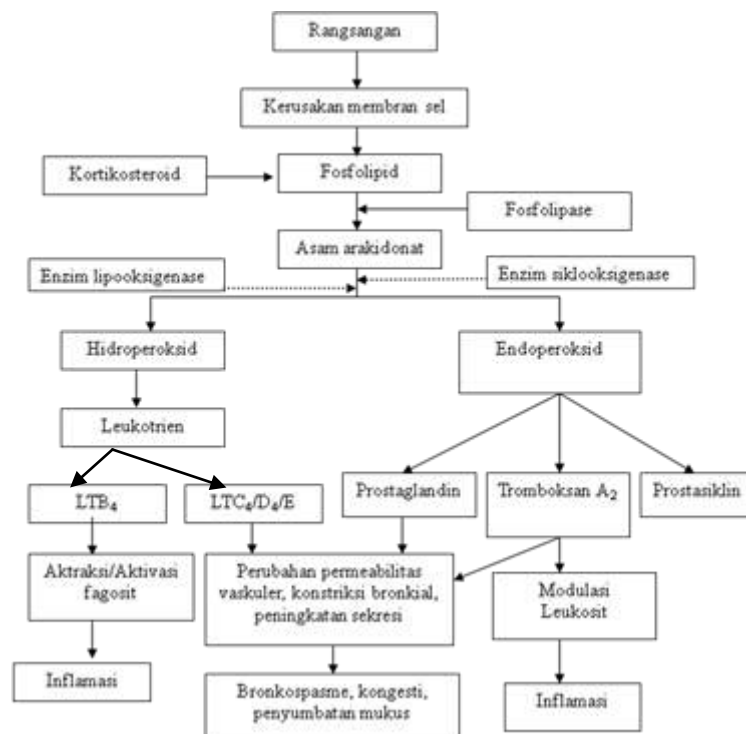
Functio laesa merupakan bagian yang lazim pada reaksi peradangan. Sepintas mudah dimengerti, bagian yang bengkak, nyeri disertai sirkulasi abnormal dan lingkungan kimiawi lokal yang abnormal (Price dan Wilson, 2005).

2.1.4 Mekanisme Inflamasi

Terjadinya inflamasi adalah reaksi setempat dari jaringan atau sel terhadap suatu rangsang atau cedera. Setiap ada cedera, terjadi rangsangan untuk dilepaskannya zat kimia tertentu yang akan menstimulasi terjadinya perubahan

jaringan pada reaksi inflamasi tersebut, diantaranya adalah histamin, serotonin, bradikinin, leukotrien, dan prostaglandin. Histamin menyebabkan vasodilatasi pada arterioli yang didahului vasokonstriksi awal dan peningkatan permeabilitas kapiler, hal ini menyebabkan perubahan distribusi sel darah merah. Oleh karena aliran darah yang lambat, sel darah merah akan menggumpal, akibatnya sel darah putih terdesak ke tepi, makin lambat aliran darah maka sel darah putih yang menempel pada dinding pembuluh darah semakin lama semakin banyak. Perubahan permeabilitas yang terjadi menyebabkan cairan keluar dari pembuluh darah dan berkumpul dalam jaringan. Bradikinin bereaksi lokal menimbulkan rasa nyeri, vasodilatasi, meningkatkan permeabilitas kapiler. Sebagai penyebab radang prostaglandin berpotensi kuat setelah bergabung dengan mediator lainnya (Mansjoer, 1999).

Mekanisme terjadinya inflamasi ditunjukkan pada gambar 2.1 berikut:



Gambar 2.1 Bagan mekanisme terjadinya inflamasi (Katzung, 2010).

Asam arakidonat merupakan prekursor dari sejumlah besar mediator inflamasi. Senyawa ini merupakan komponen utama lipid seluler dan hanya terdapat dalam keadaan bebas dengan jumlah kecil yang sebagian besar berada dalam fosfolipid membran sel. Bila membran sel mengalami kerusakan oleh suatu rangsangan maka enzim fosfolipase diaktivasi untuk mengubah fosfolipid tersebut menjadi asam arakidonat, kemudian sebagian diubah oleh enzim siklooksigenase menjadi prostaglandin, tromboksan A_2 , dan prostasiklin. Bagian lain dari asam arakidonat diubah oleh enzim lipooksigenase menjadi leukotrien. Siklooksigenase terdiri dari dua iso enzim, COX-1 dan COX-2. Leukotrien yang dibentuk melalui alur lipooksigenase yaitu LTA_4 yang tidak stabil, kemudian oleh hidrolase diubah menjadi LTB_4 atau LTC_4 yang terakhir bisa diubah menjadi LTD_4 dan LTE_4 , leukotrien berperan peradangan pada proses dan alergi pada asma. Leukotrien dibentuk di granulosit eosinofil dan berkhasiat sebagai vasokonstriksi di bronkus dan mukosa lambung. Khusus LTB_4 disintesa di makrofag dan bekerja menstimulasi migrasi leukosit. Mediator – mediator ini dinamakan *slow reacting substance of anaphylaxis* (SRS-A) (Tjay, 2002).

2.1.5 Mediator Inflamasi

Inflamasi dimulai saat sel mast berdegranulasi dan melepaskan bahan-bahan kimianya seperti histamin, serotonin dan bahan kimia lainnya. Histamin yang merupakan mediator kimia utama inflamasi juga dilepaskan oleh basofil dan trombosit. Akibat pelepasan histamin ini adalah vasodilatasi pembuluh darah sehingga terjadi peningkatan aliran darah dan terjadinya peningkatan permeabilitas kapiler pada awal inflamasi (Corwin, 2008).

Mediator lain yang dilepaskan selama respon inflamasi yaitu faktor kemotaktik neutrofil dan eosinofil, dilepaskan oleh leukosit (neutrofil dan eosinofil) yang dapat menarik sel-sel ke daerah cedera. Selain itu, juga dilepaskan prostaglandin saat membran sel mengalami kerusakan, fosfolipid akan diubah menjadi asam arakidonat dikatalisis oleh fosfolipase A_2 . Asam arakidonat ini

selanjutnya akan dimetabolisme oleh lipooksigenase dan siklooksigenase (COX). Pada jalur siklooksigenase inilah prostaglandin disintesis. Prostaglandin dapat meningkatkan aliran darah ke tempat yang mengalami inflamasi, meningkatkan permeabilitas kapiler dan merangsang reseptor nyeri. Leukotrien merupakan produk akhir dari metabolisme asam arakidonat pada jalur lipooksigenase. Senyawa ini dapat meningkatkan permeabilitas kapiler dan meningkatkan adhesi leukosit pada pembuluh kapiler selama cedera atau infeksi (Corwin, 2008).

Mediator inflamasi yang lain adalah sitokin, yaitu zat-zat yang dikeluarkan oleh leukosit. Sitokin bekerja seperti hormon dengan merangsang sel-sel lain pada sistem imun untuk berproliferasi atau menjadi aktif selama infeksi dan inflamasi. Sitokin terdiri dari dua kategori yaitu yang bersifat pro-inflamasi dan anti-inflamasi. Sitokin pro-inflamasi antara lain interleukin-1 yang berasal dari makrofag dan monosit; interleukin-2, interleukin-6, *tumor necrosis factor*, dan interferon gamma berasal dari aktivasi limfosit. Sitokin pro-inflamasi berperan dalam merangsang makrofag untuk meningkatkan fagositosis dan merangsang sumsum tulang untuk meningkatkan produksi leukosit dan eritrosit. Sitokin anti-inflamasi meliputi interleukin-4 dan interleukin-10. Selain itu juga terdapat kemokin, yaitu sejenis sitokin, bekerja sebagai agen kemotaksis yang mengatur pergerakan leukosit (Corwin, 2008).

2.2 Anti inflamasi

Anti inflamasi adalah sebutan untuk agen/obat yang bekerja melawan atau menekan proses peradangan (Dorland, 2002). Berdasarkan mekanisme kerjanya, obat anti inflamasi dibagi menjadi 2 golongan utama, yaitu:

2.2.1 Anti inflamasi golongan steroid (kortikosteroid)

Timbulnya gejala inflamasi dapat dicegah atau ditekan oleh kortikosteroid. Mekanisme kerjanya adalah menghambat aktivitas fosfolipase, sehingga mencegah

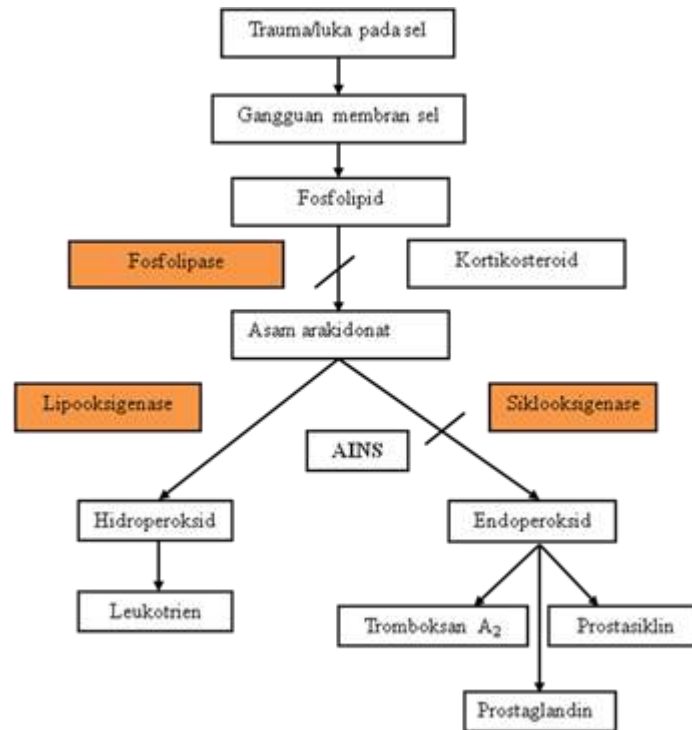
pelepasan awal asam arakidonat yang diperlukan untuk mengaktivasi jalur enzim berikutnya. Hal ini menyebabkan sintesis prostaglandin, tromboksan, prostasiklin maupun leukotrien terganggu (Gambar 2.2). Di samping itu, kortikosteroid juga dapat mengurangi gejala inflamasi dengan efek vaskularnya, yaitu vasokonstriksi; penurunan permeabilitas kapiler dengan mengurangi jumlah histamin yang dilepaskan basofil; menghambat fungsi fagositosis leukosit dan makrofag jaringan (Katzung, 2010; Wilmana, 2007).

Kortikosteroid yang biasa digunakan adalah prednison, betametason, dan dexametason. Penggunaan klinik kortikosteroid sebagai anti inflamasi merupakan terapi paliatif, yaitu hanya menghambat gejalanya sedangkan penyebab penyakit masih ada (Katzung, 2010; Wilmana, 2007).

2.2.2 Anti inflamasi Non Steroid (AINS)

Obat golongan AINS yang mempunyai khasiat sebagai analgetik, antipiretik, dan anti inflamasi merupakan suatu kelompok obat yang heterogen bahkan beberapa obat ini memiliki banyak persamaan dalam efek terapi maupun efek samping berdasarkan mekanisme kerjanya, yaitu menghambat biosintesis prostaglandin (Wilmana, 2007).

AINS menghambat siklooksigenase (COX) sehingga konversi asam arakidonat menjadi prostaglandin, prostasiklin dan tromboksan yang berperan dalam menimbulkan reaksi peradangan terganggu (Gambar 2.2). Tetapi anti inflamasi nonsteroid tidak menghambat biosintesis leukotrien yang diketahui ikut berperan dalam proses inflamasi (Wilmana, 2007).



Gambar 2.2 Biosintesis prostaglandin (Wilmana, 2007)

Siklooksigenase (COX) terdiri dari dua isoform, yaitu COX-1 dan COX-2. COX-1 penting dalam pemeliharaan berbagai organ dan jaringan khususnya ginjal, saluran cerna dan trombosit. Di mukosa lambung, aktivasi COX-1 menghasilkan prostasiklin yang bersifat sitoprotektif. COX-2 semula diduga diinduksi berbagai stimulus inflamatoar, termasuk sitokin, endotoksin dan faktor pertumbuhan. Ternyata sekarang COX-2 juga mempunyai fungsi fisiologis yaitu di ginjal, jaringan vaskuler dan pada proses perbaikan jaringan. Tromboksan A₂ yang disintesis trombosit oleh COX-1 menyebabkan agregasi trombosit, vasokonstriksi dan proliferasi otot polos. Sebaliknya prostasiklin yang disintesis oleh COX-2 di endotel makrovaskuler melawan efek tersebut dan menyebabkan penghambatan agregasi trombosit, vasodilatasi dan efek anti-proliferatif. Jika aktivitas COX-1 dihambat oleh AINS maka akan timbul efek samping pada berbagai organ dan jaringan tersebut.

Sedangkan jika aktivitas COX-2 dihambat oleh AINS maka inflamasi akan berkurang (Fitzgerald Garret dan Carlo, 2001; Wilmana, 2007).

Berdasarkan mekanisme penghambatan siklooksigenase, AINS dikelompokkan menjadi AINS non selektif dan AINS selektif penghambat COX-2. AINS selektif penghambat COX-2 antara lain selekoksib, rofekoksib, valdekoksib, parekoksib, dan etorikoksib. Sedangkan AINS non selektif antara lain aspirin, indometasin, diflunisal, naproksen, dan natrium diklofenak. AINS selektif penghambat COX-2 terbukti kurang menyebabkan gangguan saluran cerna dibanding AINS non-selektif tetapi tidak ada yang secara klinis terbukti lebih efektif dari AINS non-selektif. Obat ini hanya meringankan gejala nyeri dan inflamasi yang berkaitan dengan penyakitnya secara simtomatik (Wilmana, 2007).

2.3 Mangga (*Mangifera indica* L.) Arumanis

Mangifera indica adalah salah satu pohon hijau besar pada famili *Anacardiaceae*, genus *Mangifera* L., spesies *Mangifera indica* L. yang dapat tumbuh dengan tinggi hingga 10-45 meter, berbentuk kubah dan berdaun lebat, biasanya bercabang banyak dan berbatang gemuk (Shah *et al.*, 2010).

Untuk varietas mangga, juga terdapat banyak jenis varietas mangga yang tumbuh dan berkembang di Indonesia. Varietas tersebut salah satunya yang terbanyak adalah varietas *mangifera indica*. Yang termasuk dalam varietas ini adalah mangga arumanis, mangga golek, mangga gedong, mangga madu, mangga manalagi, mangga genjah, mangga riau, dan mangga hijau (Aak, 1991).

Indonesia adalah salah satu negara dengan keragaman varietas buah mangga tertinggi. Salah satu varietas buah mangga yang memiliki potensi ekspor tinggi adalah mangga arumanis karena varietas mangga ini tidak dihasilkan oleh negara penghasil dan pengeksport mangga dunia, seperti India, Meksiko, dan negara Amerika latin lainnya. Disamping itu mangga arumanis memiliki keunggulan karena

citarasanya yang khas dengan tekstur lembut, *creamy*, dengan sedikit serat (Utama *et al.*, 2011).

Penelitian mengenai kegunaan kulit mangga arumanis di bidang kesehatan memang belum dilakukan. Namun, telah dilakukan penelitian mengenai kandungan flavonoid daun mangga empat varietas di Indonesia, yaitu mangga gedong, mangga golek, mangga apel, dan mangga arumanis. Dalam penelitian tersebut diketahui bahwa total flavonoid pada daun mangga arumanis (37.57 g QE/ 100 g) jauh lebih besar dibandingkan tiga varietas mangga yang lain (Fidrianny *et al.*, 2013).



Gambar 2.3 Tanaman Mangga (*Mangifera indica* L.)

Mangga memiliki total fenol lebih banyak didapatkan di kulit mangga daripada daging buahnya yaitu sekitar 4.066 mg/kg (Masibo dan He, 2008). Ajila *et al.* (2007) menyatakan total fenol pada kulit mangga yang masih mentah lebih tinggi dibandingkan yang sudah masak. Dua komponen yang paling utama pada kulit mangga yaitu mangiferin dan kuersetin beserta derivatnya. Lebih jelasnya, daftar polifenol pada kulit mangga dapat dilihat pada Tabel 2.1.

Tabel 2.1 Kandungan fenolik pada kulit mangga (mg/ kg) dalam sediaan kering

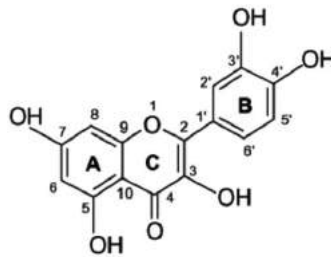
Kandungan	Jumlah (mg/ kg)
Mangiferin	1.690,4
Mangiferin gallat	321,9
Isomangiferin	134,5
Isomangiferin gallat	82,0
Kuersetin 3-O-galactoside	651,2
Kuersetin 3-O-glucoside	557,7
Kuersetin 3-O-xyloside	207,3
Kuersetin 3-O-arabinopyranoside	101,5
Quercein 3-O-arabinofuranoside	103,6
Kuersetin 3-O-rhamnoside	20,1
Kaempferol 3-O-glucoside	36,1
Rhamnetin 3-O galactoside/ glucoside	94,4
Kuersetin	65,3
Total fenol	4.066,0

Sumber: Berardini *et al.* dalam Masibo dan He (2008).

Berdasarkan penelitian Shah *et al.* (2010), menemukan bahwa mangga sebagai anti oksidan karena *Reactive Oxygen Species* (ROS) memiliki efek oksidasi besar dan menginduksi kerusakan pada molekul biologis, termasuk protein, lipid, dan DNA, dengan perubahan yang bersamaan pada sruktur dan fungsinya. Antioksidan alami, vitamin E, vitamin C dan β -karoten, dapat berfungsi untuk mencegah kelainan kronik. Ekstrak *Mangifera indica* menunjukkan efek penghambatan yang signifikan pada peroksidasi fosfolipid otak tikus dan mencegah kerusakan DNA disebabkan oleh *bleomycin* atau *sistem copper-phenenthroline*. Ekstrak *aqueous* kulit batang mangga menunjukkan efek analgesik pada tikus yang diinduksi formalin, sebagai anti inflamasi pada tikus yang diinduksi karagenin (Garido *et al.*, 2001) serta sebagai anti oksidan (Rosyidah, 2010). Sedangkan ekstrak etanol daun manga (*Mangifera indica* L.) memiliki efek anti diabetes pada tikus wistar dengan metode induksi aloksan (Mathalaimutoo *et al.*, 2012) dan sebagai analgesik, anti inflamasi dan anti mikroba (Petchi, 2011).

2.4 Kuersetin

Kuersetin mempunyai rumus kimia 3,3',4',5,7-Pentahydroxyflavone dan dapat melebur pada suhu $316,5^{\circ}\text{C}$. Kuersetin tidak larut dalam air dan eter, tetapi larut dalam alkohol dan aseton (Lide, 1997). Selain merupakan antioksidan yang poten, kuersetin juga memiliki efek anti viral, anti bakteri, anti kanker, dan anti inflamasi (Materska, 2008). Sebuah molekul kuersetin terdiri atas lima gugus hidroksil yang menentukan aktivitas biologis senyawa dan derivat yang mungkin terbentuk (Gambar 2.4).

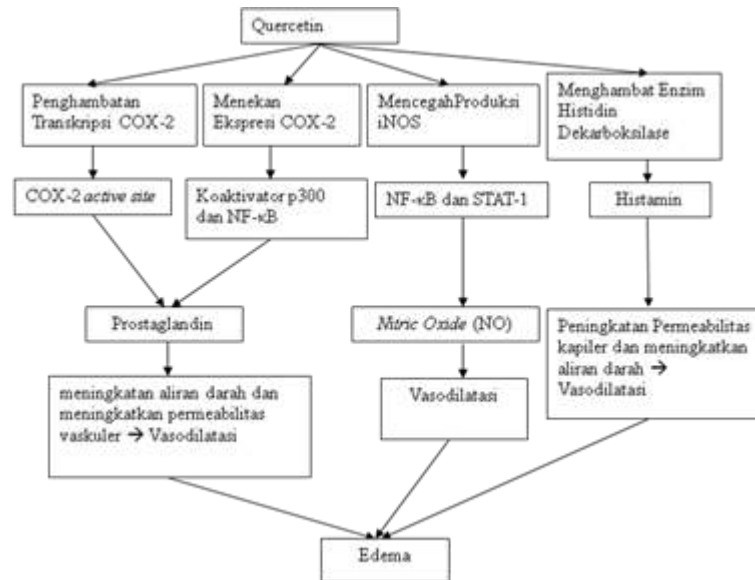


Gambar 2.4 Struktur kimia kuersetin (Sumber: D'mello *et al.*, 2011)

Menurut D'mello *et al.* (2011), dalam penelitiannya tentang pola ikatan beragam jenis flavonoid terhadap enzim COX-2 menemukan bahwa COX-2 memiliki tiga *active site* penting yaitu gugus hidrofobik, kanal residu hidrofilik dan gugus tepi.

2.4.1 Mekanisme Kuersetin sebagai Anti inflamasi

Kuersetin memiliki empat mekanisme dalam fungsinya sebagai anti inflamasi yaitu melalui penghambatan transkripsi COX-2, menekan ekspresi COX-2, mencegah produksi iNOS dan penghambatan enzim histidin dekarboksilase. Mekanisme kuersetin sebagai anti inflamasi dapat dilihat pada bagan dibawah ini (Gambar 2.5).



Gambar 2.5 Skema Kuersetin sebagai Anti inflamasi

Mekanisme pertama kuersetin sebagai anti inflamasi dengan menghambat transkripsi COX-2 melalui COX-2 *active site*. Kuersetin memiliki cincin-A dan cincin-B yang akan berikatan dengan *active site* pada COX-2. COX-2 memiliki tiga *active site* penting yaitu gugus hidrofobik, kanal residu hidrofilik, dan gugus tepi. Aktivitas penghambatan obat NSAID golongan COX-2 selektif terjadi melalui pengikatan gugus tepi, sedangkan ikatan kuersetin terjadi pada gugus hidrofobik dan kanal residu hidrofilik. Meskipun berbeda, kuersetin masih dapat bertindak sebagai agen anti inflamasi yang mungkin berhubungan dengan penghambatan transkripsi COX-2. Ketika COX-2 dihambat maka prostaglandin yang bekerja meningkatkan aliran darah ke tempat yang mengalami inflamasi, meningkatkan permeabilitas kapiler (vasodilatasi) dan merangsang reseptor nyeri menjadi terganggu, sehingga bengkak (edema) dan nyeri sebagai tanda inflamasi akan berkurang (D'mello *et al.*, 2011; Corwin, 2008; dan Wilmana, 2007)

Mekanisme kedua, kuersetin secara signifikan menekan ekspresi COX-2 dengan menghambat pengikatan transaktivator NF-κB dan memblokir pemasukan koaktivator p300 yang berfungsi sebagai promotor COX-2. Selain itu, asetilasi NF-

κ B oleh kuersetin juga efektif menghambat aktivitas p300 histone acetyltransferase (HAT) sehingga terjadi pelemahan p300. Hambatan pada transaktivator NF- κ B dan sinyal p300 ini menyebabkan ekspresi COX-2 terganggu (Xiao *et al.*, 2011). Ketika COX-2 terganggu maka prostaglandin yang bekerja meningkatkan aliran darah ke tempat yang mengalami inflamasi, meningkatkan permeabilitas kapiler (vasodilatasi) dan merangsang reseptor nyeri menjadi terganggu sehingga menimbulkan bengkak (edema) (Corwin, 2008).

Jalur selanjutnya adalah dengan mencegah produksi *inducible nitric oxide syntase* (iNOS). Kuersetin terbukti memiliki aktivitas paling poten dalam penghambatan *Nuclear Factor- κ B* (NF- κ B) dan *Signal Transducer and Activator of Transcription 1* (STAT-1) yang merupakan faktor penting dalam transkripsi iNOS. Ketika terjadi inflamasi, produk bakteri dan sitokin proinflamator akan menginduksi *inducible nitric oxide syntase* (iNOS) yang bisa memproduksi NO (*Nitric Oxide*) dalam jumlah besar. *Nitric oxide* memiliki efek vasodilator (Hämäläinen *et al.*, 2007).

Mekanisme terakhir kuersetin sebagai anti inflamasi yaitu dengan menghambat enzim histidin dekarboksilase sehingga sintesis histamin terhambat. Ketika histamin terhambat maka efeknya terhadap vasodilatasi pembuluh darah yang menyebabkan peningkatan aliran darah dan terjadinya peningkatan permeabilitas kapiler pada awal inflamasi akan terganggu (Corwin, 2008).

2.5 Karagenin

Bahan yang digunakan sebagai penginduksi inflamasi (inflamator) pada mencit atau tikus untuk pengujian efek anti inflamasi beragam jenisnya seperti *brewer's yeast*, formaldehid, dextran, *egg albumin*, kaolin, aerosil, formalin, dan karagenin (Patel *et al.*, 2012). Dibandingkan dengan bahan yang lain, penggunaan karagenin memiliki beberapa keuntungan, antara lain tidak meninggalkan bekas, tidak menimbulkan kerusakan jaringan, dan memberikan respon lebih peka terhadap obat anti inflamasi dibanding senyawa iritan lainnya (Fridiana, 2012).

Menurut Fridiana (2012), karagenin adalah suatu mukopolisakarida yang diperoleh dari rumput laut merah Irlandia (*chondrus crispus*) yang dapat menyebabkan inflamasi jika diinduksikan secara subplantar pada telapak kaki tikus. Bentuknya berupa serbuk bewarna putih hingga kuning kecoklatan, ada yang berbentuk butiran kasar hingga serbuk halus dan tidak berbau. Berdasarkan kandungan sulfat dan potensi pembentukan gelya, karagenin dapat dibagi menjadi tiga jenis, yaitu lambda karagenin, iota karagenin, dan kappa karagenin. Ketiga karagenin ini memiliki sifat larut dalam air bersuhu 80° (Rowe *et al.*, 2009). Karagenin ini berperan dalam pembentukan edema dalam model inflamasi akut (Singh *et al.*, 2008).

Mekanisme karagenin dalam menimbulkan edema kaki melalui perangsangan fosfolipida membran sel mast yang terdapat di jaringan ikat di sekitar telapak kaki tikus untuk mengeluarkan asam arakidonat dengan bantuan enzim fosfolipase A2 sehingga menghasilkan berbagai macam produk mediator inflamasi dengan bantuan Radical Oxygen Spesies (Nuswantoro, 2011). Mediator inflamasi terdapat dalam tiga fase pembentukan edema yang diinduksi karagenin. Fase pertama adalah pelepasan histamin dan serotonin yang berlangsung hingga 90 menit. Fase kedua adalah pelepasan bradikinin yang terjadi 1,5 jam hingga 2,5 jam setelah induksi. Pada fase ketiga, terjadi pelepasan prostaglandin pada 3 jam setelah induksi. Berdasarkan mediator-mediator inflamasi yang dihasilkan oleh karagenin menimbulkan efek vasodilatasi, peningkatan permeabilitas kapiler dan peningkatan aliran darah, hal ini menyebabkan terjadinya edema kaki mencit yang diinjeksi karagenin secara subplantar. Edema berkembang cepat dan bertahan maksimal sekitar 6 jam setelah induksi dan berangsur-angsur berkurang dalam waktu 24 jam (Morris, 2003).

2.6 Subplantar

Subplantar berasal dari kata sub dan plantar, sub yang artinya bawah/sebagian/hampir, sedangkan plantar adalah telapak kaki, sehingga subplantar

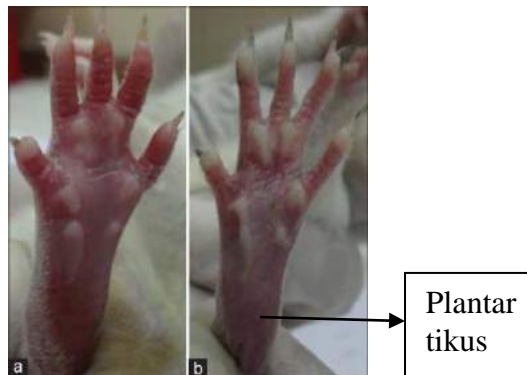
adalah dibawah atau sebagian telapak kaki (Dorland, 2002). Menurut definisi dalam bahasa Inggris subplantar adalah dibawah telapak kaki. Pada penelitian oleh Anwar *et al.* (2013), menggunakan karagenin sebagai induksi radang, induksi ini dilakukan secara subplantar (dibawah telapak kaki).



Gambar 2.6a plantar pada manusia



Gambar 2.6b injeksi subplantar pada manusia



Gambar 2.6c plantar tikus setelah induksi karagenin (a)

Injeksi subplantar manusia ditemukan pada pasien dengan plantar fasitis yang diterapi menggunakan injeksi obat kortikosteroid. Cara injeksi dengan memasukkan

jarum sampai mencapai bagian anterior distal dari tuberositas calcaneus medial plantar lalu injeksikan obat tersebut (Daly *et al.*, 1992).

Injeksi di jaringan subkutan plantar akibat induksi karagenin membuat tubuh merespon kerusakan jaringan tersebut yang biasa dikenal dengan inflamasi. Ketika ada kerusakan jaringan, terjadi rangsangan untuk dilepaskannya prostaglandin oleh enzim siklooksigenase. Penurunan volume edema kaki tikus disebabkan oleh penghambatan enzim siklooksigenase (Sutrisna *et al.*, 2010).

Injeksi ini sering digunakan oleh beberapa penelitian dengan menginjeksi karagenin secara subplantar kaki mencit dan tikus yang akan menunjukkan edema pada telapak kaki hewan coba dalam uji aktivitas anti inflamasi (Anwar *et al.*, 2013; Veriony *et al.*, 2011; Kurniawan *et al.*, 2014; Fridiana, 2012). Aktivitas anti inflamasi ditentukan dengan metode hambatan edema yang diinduksi karagenin (1% dalam NaCl 0,9%) (Winter, 1962).

2.7 Pengukuran Edema Kaki

Ada tiga cara yang dilakukan untuk mengukur edema kaki mencit yaitu menghitung panjang keliling telapak kaki mencit menggunakan mikrometer, menghitung besar edema dengan menggunakan kaliper dan menghitung besar edema dengan menggunakan pletismometer. Pletismometer sering digunakan pada uji ini karena pengukurannya tepat, cepat dan akurat dibandingkan dengan alat yang lain. Pletismometer adalah alat ukur yang digunakan untuk mengukur edema kaki tikus atau mencit. Alat ini memiliki 2 tabung yang saling berhubungan dan berisi cairan. Tabung A berdiameter lebih besar daripada tabung B. Prinsip kerja dari alat ini adalah perpindahan cairan dari tabung A ke tabung B, prinsip ini sesuai dengan hukum *Archimedes* yaitu dimana benda yang dimasukkan ke dalam zat cair akan memberi gaya atau tekanan ke atas sebesar volume yang dipindahkan.



Gambar 2.7 Pletismometer

Komponen dan fungsi pada masing-masing bagian pada plethysmometer adalah sebagai berikut.

Reservoir	Sebagai penampung air, air ini dialirkan saat volume pada air di tabung A berkurang
Selang air masuk	Menyalurkan air dari reservoir ke Sel (Tabung A)
Sel (Tabung A)	Tabung berisi air yang berfungsi sebagai tempat dicelupkannya kaki tikus atau mencit
Katoda	Sebagai alat transduser ke monitor sehingga diperoleh angka pada monitor yang menunjukkan volume kaki tikus atau mencit
Layar monitor	Data hasil pengukuran volume kaki tikus atau mencit yang ditunjukkan dengan satuan ml

Tabel 2.2 komponen dan fungsi bagian plethysmometer

Cara pengukuran menggunakan alat plethysmometer adalah sebagai berikut.

1. Pasang reservoir pada tiang penyangga
2. Pasang kabel ke saluran listrik dan nyalakan tombol on pada bagian belakang recorder.
3. Tekan tombol "ZERO" untuk memastikan bahwa angka di monitor adalah nol.

4. Isi sel (Tabung A) dengan air yang berasal dari reservoir sampai pada batas atas bewarna merah pada tabung A.
5. Celupkan kaki mencit ke tabung A sampai pada batas tanda yang dibuat menggunakan spidol pada mata kaki mencit
6. Hasil pengukuran akan direfleksikan ke katoda (tabung B) yang memiliki transduser. Transduser ini terhubung pada suatu alat pembaca (layar monitor) sehingga hasilnya dapat diketahui (Winyard and Willoughby, 2003).
7. Lihat hasil pengukuran pada layar monitor.
8. Untuk pengukuran pada waktu selanjutnya, harus memastikan bahwa kaki mencit dalam keadaan kering sehingga tidak terjadi salah pengukuran. Setiap pengukuran diberi jeda minimal 10 detik.

2.9 Hipotesis

Pemberian ekstrak kulit mangga arumanis dapat menurunkan edema kaki mencit putih jantan yang diinduksi karagenin.

BAB 3. METODE PENELITIAN

3.1 Jenis Penelitian

Jenis penelitian yang digunakan adalah *quasi eksperimental* (eksperimen semu). Disebut penelitian semu karena syarat-syarat sebagai penelitian eksperimen tidak cukup memenuhi seperti, pengelompokan anggota sampel pada kelompok eksperimen dan kelompok kontrol tidak dilakukan secara random (acak) dan kontrol terhadap variabel-variabel yang berpengaruh pada eksperimen sulit dilakukan (Sugiyono, 2014; Notoatmodjo, 2012).

3.2 Waktu dan Tempat Penelitian

Waktu penelitian dilaksanakan pada bulan Desember 2015. Identifikasi tanaman mangga di Fakultas MIPA Jurusan Biologi Universitas Jember, kemudian dilanjutkan dengan pembuatan ekstrak kulit mangga di Laboratorium Biologi Fakultas Farmasi Universitas Jember selama satu minggu (7 hari). Perlakuan hewan coba dilaksanakan di Laboratorium Biomedik Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Jember selama 8 hari. Perlakuan tersebut diawali dengan adaptasi hewan coba.

3.3 Populasi, Besar Sampel, dan Cara Sampling

3.3.1 Populasi dan Besar Sampel

Populasi dalam penelitian ini adalah 30 mencit (*mus musculus*) putih jantan. Besar Sampel penelitian adalah seluruh mencit putih jantan yang digunakan dalam penelitian ini. Teknik pengambilan sampel dalam penelitian ini adalah total sampling. Total sampling adalah teknik pengambilan sampel dimana jumlah sampel sama dengan populasi, alasan mengambil total sampling karena menurut jumlah populasi yang kurang dari 100 seluruh populasi dijadikan sampel penelitian semuanya (Sugiyono, 2014).

Kriteria mencit yang digunakan adalah memiliki berat badan antara 20-30 gram, berumur 2-3 bulan, jenis kelamin jantan. Seluruh mencit diletakkan dalam kotak plastik standar selama 7 hari untuk adaptasi. Selama masa percobaan, mencit diberikan makanan standar dan air secara *adlibitum*.

3.3.2 Cara Sampling

Pengelompokkan mencit dilakukan secara *proportional sampling* yaitu pengambilan sampel yang memperhatikan pertimbangan unsur-unsur atau kategori dalam populasi penelitian. Setelah peneliti mengidentifikasi unsur atau kategori populasi kemudian peneliti menetapkan berdasarkan pertimbangannya sebagian dari populasi mencit diambil menjadi sampel untuk dimasukkan kedalam kandang yang telah disediakan (Sugiyono, 2014; Chandra, 2008).

Berdasarkan besar sampel mencit akan dibagi menjadi 7 kelompok dengan masing-masing kelompok adalah 4 ekor mencit. Jadi, total sampel mencit penelitian ini adalah 28 ekor mencit.

3.4 Variabel Penelitian

3.4.1 Variabel Bebas

Variabel bebas penelitian adalah pemberian ekstrak kulit mangga (*Mangifera indica L.*) arumanis pada masing-masing kelompok perlakuan.

3.4.2 Variabel Terikat

Variabel terikat dalam penelitian ini adalah edema kaki mencit. Edema ini diukur melalui volume edema kaki mencit (Lucetti *et al*, 2010; Anwar *et al*, 2013).

3.5 Definisi Operasional

Definisi operasional adalah uraian tentang batasan variabel yang dimaksud, atau tentang apa yang diukur oleh variabel yang bersangkutan (Notoatmodjo, 2012). Pada penelitian ini yang mencakup definisi operasional adalah ekstrak kulit buah

mangga varietas arumanis, natrium diklofenak, pletismometer, edema kaki dan karagenin.

3.5.1 Ekstrak kulit mangga (*Mangifera indica L.*) Varietas Arumanis

Ekstrak kulit *Mangifera indica L.* arumanis adalah sediaan yang diperoleh dari ekstraksi kulit mangga arumanis yang sudah diidentifikasi di Laboratorium Botani Fakultas MIPA Universitas Jember dan didapatkan dari Ambulu, Jember. Kulit mangga kering yang sudah dihaluskan diekstraksi menggunakan metode maserasi dengan pelarut etanol 80%. Selanjutnya etanol diuapkan dengan *rotary evaporator* sehingga didapatkan ekstrak kulit mangga (*Mangifera indica L.*) kental. Dosis ekstrak kulit mangga arumanis yang digunakan pada penelitian ini adalah 0,52 mg/g; 1,3 mg/g; 2,6 mg/g; 5,2 mg/g; dan 26 mg/g. Dosis ekstrak kulit mangga arumanis tersebut merupakan skala numerik.

3.5.2 Natrium Diklofenak

Natrium diklofenak adalah suatu turunan asam fenilasetat yang relatif tidak selektif sebagai penghambat COX (Katzung, 2010). Dalam percobaan ini, natrium diklofenak yang digunakan sebagai kontrol positif diperoleh dari Laboratorium Biologi Fakultas Farmasi Universitas Jember dan hanya diberikan pada kelompok kontrol positif (K+) dengan dosis 0,0065 mg/gBB mencit.

3.5.3 Pletismometer

Pletismometer adalah alat ukur yang digunakan untuk mengetahui volume kaki tikus atau mencit, kaki hewan coba diletakkan pada air tak berwarna yang merupakan sel (tabung A) (Gambar 2.7), hasil pengukuran direfleksikan di katoda yang memiliki transduser (tabung B) (Gambar 2.7), ini menunjukkan volume kaki mencit karena efek merubah tekanan yang masuk ke dalam cairan. Perubahan tekanan

ini merupakan kalibrasi dalam mL dan muncul dalam monitor elektronik (Gambar 2.7) (Anwar K., *et al*, 2013).

3.5.4 Edema kaki

Edema kaki yang diukur dalam penelitian ini adalah volume edema kaki mencit sebelum dan sesudah induksi karagenin serta dilihat persentase penghambatan radang. Pengukuran volume edema dimulai 30 menit setelah induksi dan diukur setiap 30 menit selama 6 jam. Volume edema adalah angka yang ditunjukkan pada layar monitor dengan satuan mililiter (Gambar 2.7) pada pletismometer. Sebelum dimasukkan ke tabung terlebih dahulu kaki mencit diberi tanda dengan menggunakan spidol pada mata kaki mencit agar pemasangan kaki ke dalam pletismometer setiap kali selalu sama. Edema kaki mencit ditunjukkan dalam bentuk rumus persentase radang (Hidayati, 2008). Data tersebut berbentuk skala numerik yang nantinya akan dianalisis dengan skala numerik dosis ekstrak kulit mangga dengan menggunakan perangkat lunak *SPSS 18.0 for Windows*.



Gambar 3.1 Pengukuran volume edema

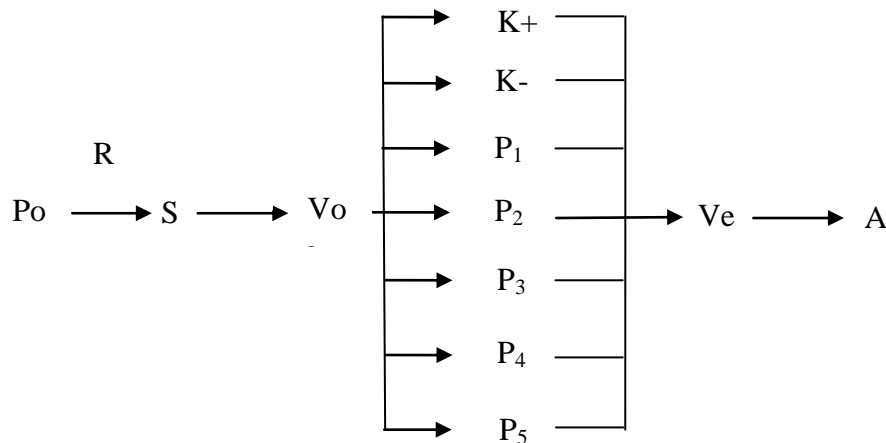
3.5.5 Karagenin

Karagenin adalah senyawa iritan yang terbuat dari ekstrak *chondrus crispus* dan dapat menyebabkan inflamasi jika diinduksikan ke subplantar pada telapak kaki mencit. Karagenin 1% diinjeksikan pada menit ke 30 setelah perlakuan. Karagenin ini didapatkan dari Laboratorium Biomedik Fakultas Farmasi Universitas Jember dalam

bentuk serbuk, setelah itu di larutkan hingga membentuk suspensi dan diinjeksi secara subplantar sebanyak 0,1 ml.

3.6 Rancangan Penelitian

Jenis rancangan penelitian yang digunakan adalah *Control Time Series Design*. Rancangan ini seperti rancangan pretest posttest, melakukan observasi berulang – ulang (sebelum dan sesudah perlakuan) sehingga pengaruh faktor luar dapat dikurangi. Rancangan ini menggunakan kelompok pembanding (kontrol) sehingga keuntungan dari rancangan ini adalah lebih menjamin validitas internal yang tinggi (Notoatmodjo, 2012). Secara skematis rancangan penelitian digambarkan sebagai berikut.



Gambar 3.2 Skema Rancangan Penelitian

Keterangan:

- Po : populasi mencit
- R : pengelompokan mencit
- S : sampel
- Vo : pengukuran volume kaki mencit sebelum diinjeksi karagenin
- K- : kelompok kontrol negatif dengan pemberian injeksi karagenin 1% sebanyak 0,1 ml dan CMC Na 1% sebanyak 0,5 ml

- K+ : kelompok kontrol positif dengan pemberian injeksi karagenin 1% sebanyak 0,1 ml dan natrium diklofenak 0,0065 mg/gr BB
- P₁ : kelompok perlakuan dengan injeksi karagenin 1% sebanyak 0,1 ml dan pemberian ekstrak kulit mangga varietas arumanis dosis 0.52 mg/gr mencit
- P₂ : kelompok perlakuan dengan injeksi karagenin 1% sebanyak 0,1 ml dan pemberian ekstrak kulit mangga varietas arumanis dosis 1.3 mg/gr mencit
- P₃ : kelompok perlakuan dengan injeksi karagenin 1 % sebanyak 0,1 ml dan pemberian ekstrak kulit mangga varietas arumanis dosis 2.6 mg/gr mencit
- P₄ : kelompok perlakuan dengan injeksi karagenin 1 % sebanyak 0,1 ml dan pemberian ekstrak kulit mangga varietas arumanis dosis 5.2 mg/gr mencit
- P₅ : kelompok perlakuan dengan injeksi karagenin 1 % sebanyak 0,1 ml dan pemberian ekstrak kulit mangga varietas arumanis dosis 26 mg/gr mencit
- Ve : pengukuran volume edema kaki mencit setelah induksi karagenin
- A : analisis data

3.7 Alat dan Bahan Penelitian

3.7.1 Alat

Alat yang digunakan dalam penelitian ini antara lain.

1. kandang mencit
2. sonde
3. *disposable syringe 1 cc*
4. *stopwatch*
5. *mortar*
6. *beaker glass*
7. timbangan mencit
8. spidol
9. pletismometer *Ugo Basile*
10. *vacuum rotary evaporator*

11. blender
12. sarung tangan

3.7.2 Bahan

Bahan yang digunakan pada penelitian ini antara lain.

1. ekstrak kulit mangga (*Mangifera indica L.*) varietas arumanis dengan berbagai dosis 0,52 mg/g; 1,3 mg/g; 2,6 mg/g; 5,2 mg/g; dan 26 mg/g;
2. natrium diklofenak 0,0065 mg/gr BB;
3. suspensi karagenin 1% dari 100 mg serbuk dilarutkan dengan CMC Na 1% sebanyak 10ml;
4. CMC Na 1% ;
5. etanol 80 %;
6. kertas saring;
7. pakan mencit standar; dan
8. aquades;

3.8 Prosedur Penelitian

Sebelum dilakukan penelitian, hewan coba selama diadaptasikan selama 7 hari kemudian dilakukan perlakuan pada hari kedelapan. Prosedur penelitian ini terdiri atas beberapa tahap, yaitu pembuatan ekstrak kulit *Mangifera indica L.* arumanis, penentuan dosis bahan uji, pembagian kelompok perlakuan, perlakuan hewan coba selama penelitian, dan pengukuran edema kaki mencit.

3.8.1 Pembuatan Ekstrak Kulit Mangga (*Mangifera indica L.*) Varietas Arumanis

Buah mangga (*Mangifera indica L.*) arumanis yang telah disiapkan dikupas dan dipisahkan antara kulit buah dengan daging buahnya. Kulit yang sudah terpisah dikeringkan (*lyophilized*) selama 2 hari, dilumatkan (*pulverized*), dan diekstraksi dengan etanol 80% selama 3 hari pada temperatur ruangan. Ekstrak difiltrasi dan dikonsentrasikan menggunakan *vacuum rotary evaporator* pada suhu 40⁰ dan

dikeringkan. Ekstrak dilarutkan dalam *dimethyl sulfoxide* (DMSO) 200 mg/ml dan diencerkan menggunakan *phospate-buffered saline* (PBS, pH 7.4) (Kim, *et al.*, 2010).

3.8.2 Penentuan dosis bahan uji

a. Dosis Ekstrak Kulit Mangga Arumanis

Berdasarkan penelitian sebelumnya yang dilakukan oleh Garrido *et al.* (2001) tentang efek antiinflamasi kulit batang mangga digunakan dosis 0,02 mg/g; 0,05 mg/g; 0,1 mg/g; 0,2 mg/g; dan 1 mg/g. Kadungan polifenol pada kulit mangga sebesar 4,066 mg/g sedangkan pada kulit batang mangga (vimang) sekitar 26 kali lebih besar dari kulit mangga yaitu sebesar 106,1 mg/g. Berdasarkan dosis tersebut pada penelitian ini peneliti memberikan variasi dosis 0,52 mg/g; 1,3 mg/g; 2,6 mg/g; 5,2 mg/g; dan 26 mg/g.

b. Dosis Natrium Diklofenak

Penghitungan dosis natrium diklofenak untuk mencit diberikan sesuai dosis efektif. Konversi dosis pada manusia dengan berat 70 kg ke mencit 20 gram adalah 0,0026 (Laurence dan Bacharach dalam Anggara, 2009). Menurut Katzung (2010), dosis efektif natrium diklofenak sebagai anti-inflamasi adalah 50 mg.

$$\begin{aligned} \text{Dosis natrium diklofenak (mencit 20 gr)} &= 50 \text{ mg} \times 0.0026 \\ &= 0.13 \text{ mg} \end{aligned}$$

$$\begin{aligned} \text{Dosis kg/BB mencit (20 gr)} &= 1000/20 \times 0,13 = 6,5 \text{ mg/kgBB} \\ &= 0,0065 \text{ mg/gr BB mencit} \end{aligned}$$

Jadi, natrium diklofenak diberikan sebanyak 0,0065 mg/gr BB untuk masing-masing mencit dengan disonde pada kelompok kontrol positif.

3.8.3 Pembagian Kelompok dan Pembagian Hewan Coba

Hewan coba dibagi dalam 7 kelompok yang terdiri atas 5 kelompok perlakuan dan 1 kelompok kontrol positif serta kontrol negatif dengan jumlah mencit pada masing-masing kelompok adalah 4 ekor. Masing-masing hewan coba dibagi kedalam:

- 1) kelompok kontrol negatif adalah kelompok yang diinjeksi karagenin 1 % sebanyak 0,1 ml dan disonde CMC Na 1% sebanyak 0,5 ml.
- 2) Kelompok kontrol positif adalah kelompok yang diinjeksi karagenin 1% sebanyak 0,1 ml dan disonde natrium diklofenak dengan dosis 0,0065 mg/gr BB
- 3) kelompok perlakuan (P1-P5) adalah kelompok yang diinjeksi karagenin 1% sebanyak 0,1 ml dan disonde ekstrak kulit mangga (*Mangifera indica* L.) varietas arumanis sesuai dengan dosis 0,52 mg/g; 1,3 mg/g; 2,6 mg/g; 5,2 mg/g; dan 26 mg/g.

3.8.4 Perlakuan pada Hewan Coba Selama Penelitian

Penelitian dilakukan dalam 8 hari dengan pembagian 7 hari untuk adaptasi hewan coba dan 1 hari untuk perlakuan pada mencit. Mencit dipuaskan selama (12-18) jam sebelum perlakuan, namun air minum tetap diberikan (*ad libitum*) (Parveen *et al.*, 2007; Rajavel *et al.*, 2007). Setiap mencit ditandai dengan spidol pada mata kaki agar pemasukan kaki ke dalam pletismometer setiap kali selalu sama. Sebelum diberikan perlakuan, terlebih dahulu dilakukan pengukuran volume kaki 28 ekor mencit dengan pletismometer. Hasil pengukuran dicatat sebagai volume awal. Perlakuan pada hewan coba pada penelitian ini, sebagai berikut.

1. Kelompok I : 4 ekor mencit diberi CMC Na 1% sebanyak 0,5 ml secara peroral (kontrol negatif)
2. Kelompok II : 4 ekor mencit diberi natrium diklofenak sebanyak 0,0065 mg/gr BB secara peroral (kontrol positif)
3. Kelompok III : 4 ekor mencit diberi Ekstrak Kulit Mangga (*Mangifera indica* L.) sebanyak 0,52 mg/g mencit secara peroral
4. Kelompok IV : 4 ekor mencit diberi Ekstrak Kulit Mangga (*Mangifera indica* L.) sebanyak 1,3 mg/g secara peroral

5. Kelompok V : 4 ekor mencit diberi Ekstrak Kulit Mangga (*Mangifera indica L.*) sebanyak 2,6 mg/g mencit secara peroral
6. Kelompok VI : 4 ekor mencit diberi Ekstrak Kulit Mangga (*Mangifera indica L.*) sebanyak 5,2 mg/g mencit secara peroral
7. Kelompok VII : 4 ekor mencit diberi Ekstrak Kulit Mangga (*Mangifera indica L.*) sebanyak 26 mg/g mencit secara peroral
8. Pada menit ke-30 disuntikkan sediaan karagenin 1% pada telapak kaki mencit secara subplantar sebanyak 0,1 ml.

3.8.5 Penilaian Edema Kaki

Pengukuran edema kaki dilakukan dengan menggunakan plestismometer. Pengukuran dilakukan setiap 30 menit selama 6 jam dimulai dengan waktu ke-0 saat dilakukan penyuntikan karagenin. Pengukuran menggunakan plestismometer dilakukan dengan cara mencelupkan kaki mencit pada Tabung A (Gambar 2.7) sebatas mata kaki yang telah ditandai dengan spidol (Veriony *et al.*, 2011). Edema kaki pada mencit dipresentasikan menggunakan rumus persentase radang. Hal ini karena edema kaki yang diinduksi karagenin, pada penelitian ini, adalah model percobaan radang (inflamasi) akut (Chakraborty *et al.*, 2004). Edema kaki terjadi setelah dilakukannya induksi karagenin. Induksi karagenin menyebabkan terjadinya proses cedera sel sehingga sel yang cedera melepaskan mediator yang mengawali proses radang. Setelah pelepasan mediator inflamasi, terjadi edema yang mampu bertahan selama 6 jam dan berangsur-angsur berkurang dalam waktu 24 jam setelah injeksi karagenin (Baghdikian *et al.*, 1997). Perhitungan presentase radang telapak kaki mencit tiap waktu ditentukan dengan rumus sebagai berikut (Hidayati, 2008):

$$\% \text{ radang} = \frac{V_t - V_o}{V_o} \times 100 \%$$

Keterangan

Vt : volume telapak kaki mencit pada waktu t

Vo : volume awal telapak kaki mencit (sebelum injeksi karagenin).

3.9 Analisis Data

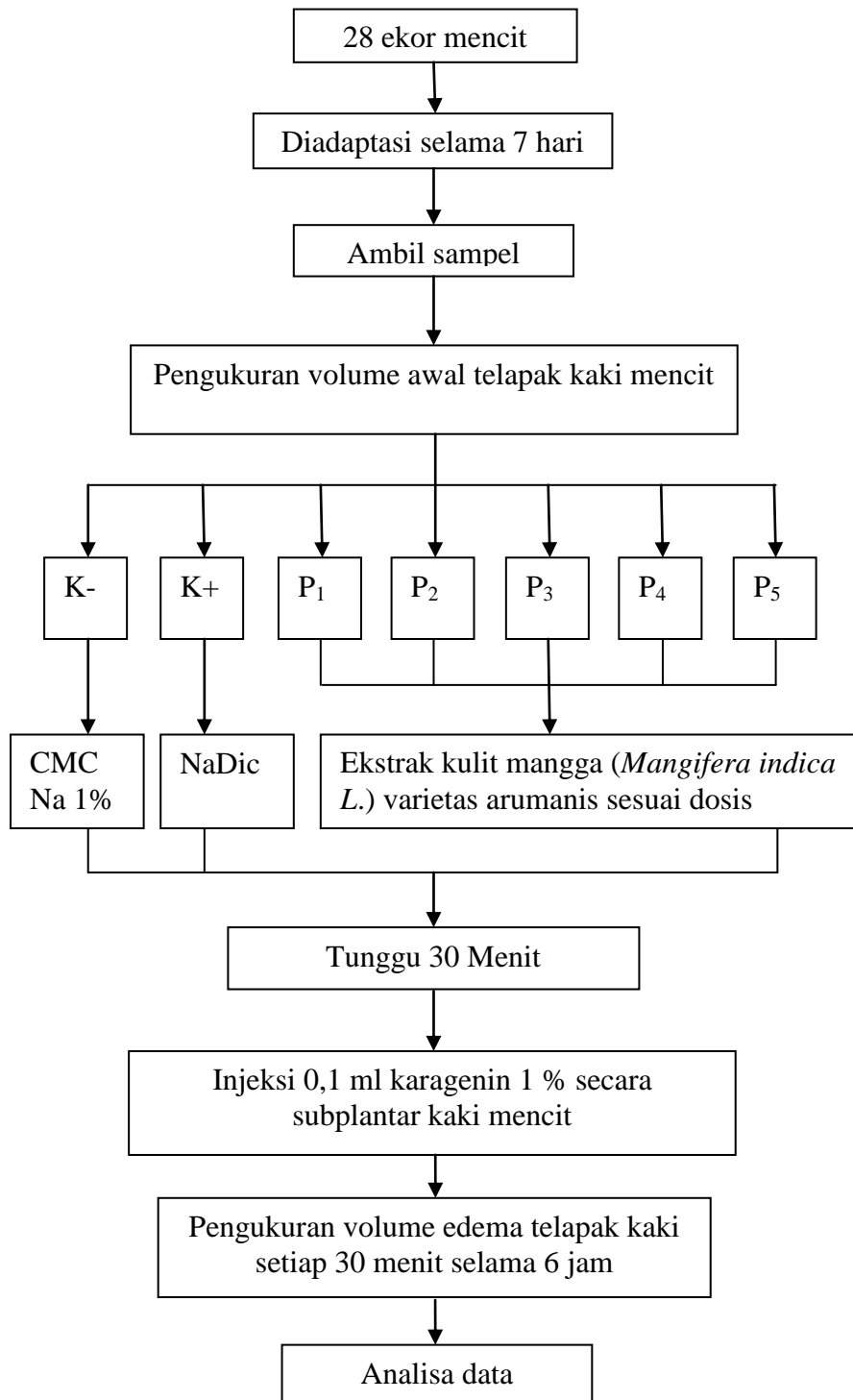
Data yang diperoleh dari pengukuran volume edema kaki mencit setiap waktu pengamatan pada semua kelompok ditabulasi. Dari hasil perhitungan tersebut data dibandingkan dengan uji statistik.

Data ditabulasi dalam tabel dan disajikan dalam diagram batang. Langkah-langkah dalam analisis data sebagai berikut.

1. Dilakukan uji normalitas menggunakan parameter *Shapiro-Wilk* yang bernilai normal apabila $p > 0,05$.
2. Dilakukan uji homogenitas menggunakan *Levene's test* dengan nilai signifikansi $p > 0.05$.
3. Jika data terdistribusi normal dan homogen, maka dilanjutkan dengan uji *Korelasi Pearson* untuk mengetahui efek pemberian ekstrak kulit mangga arumanis dengan dosis bertingkat terhadap edema kaki mencit. Jika data syarat uji parametrik tidak terpenuhi menggunakan uji non parametrik Uji *Spearman*.
4. Selanjutnya dilakukan Uji *Regresi Logaritmik* untuk menentukan dosis yang menimbulkan efek menurunkan edema kaki (Dahlan, 2009).

Seluruh data diolah dengan menggunakan perangkat lunak *SPSS 18.0 for Windows*.

3.10 Alur Penelitian



Gambar 3.3 Skema Alur Penelitian